

(19)



(10)

LT 4684 B

(12)

PATENTO APRAŠYMAS

(11) Patento numeris: **4684**

(51) Int.Cl.⁷: **C07C 211/50**
A61K 31/136

(21) Paraiškos numeris: **99-128**

(22) Paraiškos padavimo data: **1999 10 28**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **2000 05 25**

(45) Patento paskelbimo data: **2000 07 25**

(72) Išradėjas:

Laima Janušienė, LT
Dalia Raižienė, LT
Antanas Stankevičius, LT

(73) Patento savininkas:

Kauno medicinos universiteto Kardiologijos institutas,
Sukilėlių g. 17, 3007 Kaunas, LT

(54) Pavadinimas:

N-Metil,N-(4-metansulfonamidofenilkarbamoilmetil)morfolinio
chloridas, pasižymintis antiaritminiu poveikiu

(57) Referatas:

Išradime pateiktas naujai susintetintas N-metil,N-(4-metansulfonamidofenilkarbamoilmetil)morfolinio chloridas, pasižymintis mažu ūminiu toksiškumu ($LD_{50}=225$ mg/kg) bei ryškiu antiaritminiu poveikiu tiek kalcio chloridu sukeltos aritmijos modelyje, tiek ir strofantinu sukeltos aritmijos modelyje. Junginys gali būti panaudotas širdies aritmijų korekcijai.

Išradimas priskirtinas farmacijos sričiai ir gali būti naudojamas širdies ritmo sutrikimų gydymui.

Yra žinoma, kad lidokainas, prokainamidas, chinidinas pasižymi širdies aritmijas koreguojančiu efektu, tačiau jie, kaip ir kiti I-os klasės antiaritmikai, sukelia šalutinius poveikius, iš kurių pavojingiausi - proaritmija, laidumo sutrikimai, širdies nepakankamumas [The CASCADE Investigators. Amer. J. Cardiol.- 1993.-Vol.72.- P.283].

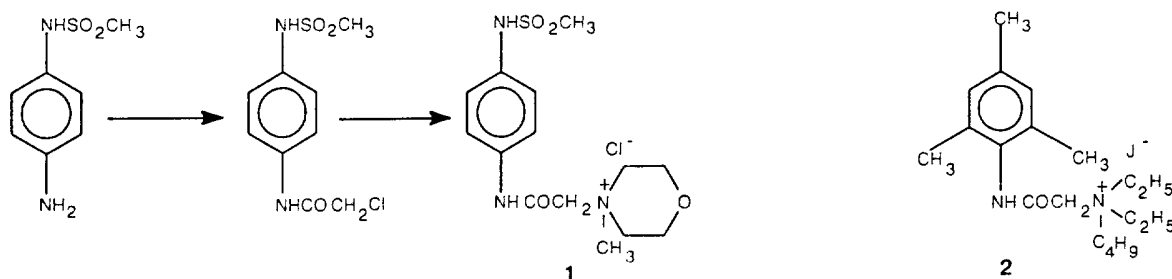
Mes nustatėme, kad kvaternizuojant artimiausio lidokaino analogo trimekaino amino grupę, antiaritminis veikimas prailgėja bei sustiprėja ir išvengiama dalies šalutinių poveikių, tačiau ketvirtinių amonio druskų ūminis toksiškumas ryškiai padidėja, atskirais atvejais net iki 10 kartų [Janušienė L. Resp. konf. organinių medžiagų chemijos ir technologijos klausimais, skirtos akad. A.Purėno 110-sioms gimimo metinėms pažymėti, medžiaga. -Kaunas, 1991.- P.22; Janušienė L., Stankevičius A., Raižienė D., Vyzas V. Ischemic Heart Disease/ Ed. J.Blužas. Kaunas.-1993.-P.285-295].

Pareiškiamas junginys - N-metil, N-(4-metilsulfonamidofenilkarbamoilmetil)morfolinio chloridas (**1**), palyginus jį su aukščiau minėtais antiaritmikais, yra pranašesnis tuo, kad pirmą kartą siūlomas modifikuotos struktūros lidokaino analogas **1**, susintetintas, atsisakant klasikinių metilo grupių 2,6-benzono ciklo padėtyse, o į 4-ą padėtį įvedant metansulfonamido grupę. Būtent šių struktūrinių pokyčių dėka netikėtai pavyko ženkliai sumažinti toksiškumą ir sustiprinti antiaritminį efektą, lyginant su žinomais antiaritmiko lidokaino analogais - trimekainu, piromekainu ir jo artimiausiu ketvirtiniu analogu - N,N-dietil,N-butil,N-(2,4,6-trimetilfenilkarbamoilmetil)amonio jodidu (**2**). Pastarojo LD₅₀ yra 53,5 mg/kg [Janušienė L., Stankevičius A., Raižienė D., Vyzas V. Ischemic Heart Disease/ Ed. J.Blužas. Kaunas.-1993.-P.285-295].

Tuo tarpu siūlomo **1** junginio esminiai požymiai yra mažas toksiškumas (LD₅₀ yra 225 mg/kg), ir žymiai stipresnis antiaritminis efektas tiek kalcio chloridu sukeltos aritmijos (gyvūnų išgyvenimo procentą didina 9 kartus), tiek ir strofantinu sukeltos aritmijos modeliuose, nes jo poveikyje neįvyksta ne tik sunkiausias ritmo sutrikimas - skilvelių fibriliacija, bet ir skilvelių tachikardija pasireiškia tik vienu atveju.

N-metil,N-(4-metansulfonamidofenilkarbamoilmetil)morfolinio chlorido (1) sintezè.

Pradinėms medžiagoms susintetinti buvo panaudotos klasikinės metodikos. N-acetil-p-fenilendiaminą veikiant metansulfochloridu buvo gautas 4-(metansulfonamido)acetanilidas. Jį hidrolizinant šarminėje aplinkoje, susintetintas 4-metansulfonamidoanilinas. Veikiant chloracetilchloridu 4-metansulfonamidoaniliną acto rūgšties ir vandeninio natrio acetato tirpale, gautas 4-metansulfonamidochloracetanilidas, kurį kaitinant su ekvimoliniu N-metilmorfolino kiekiu acetonitrile gautas N-metil,N-(4-metansulfonamidofenilkarbamilmetil)morfolinio chloridas (**1**):



4-(Metansulfonamido)acetanilidas. 10,51g (0,07M) 4-aminoacetanilido ištirpinta 40ml bevandenio piridino truputį pašildant. Šaldant mišinį (0 - 5°C temperatūroje) per 1 h sulašinta 11,5g (0,1M) metansulfonilchlorido. Po to mišinys atskiestas vandeniu, kol tirpalas vos pradeda drumstis ir paliktas stovėti kambario temperatūroje per naktį. Nufiltruotos iškritę nuosėdos, gauta 8 g (50%) rausvų kristalinių miltelių. $T_{\text{lyd.}}$ virš 190° C (izopropilo alkoholis). Gauta, %: N 12,16; S 13,82. $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$. Turi būti, %: N 12,27; S 14,05.

4-(Metansulfonamido)anilinas. 7,53g (0,033M) 4-(metansulfonamido)acetanilido ištirpinta natrio šarmo tirpale iš 4g NaOH ir 25 ml vandens ir šildyta prie 100°C temperatūroje 6 h. Reakcijos mišinys neutralintas 6 % druskos rūgštimi iki pH 8, po to - acto rūgštimi. Gauta 4,3g (70 %) rusvų kristalinių miltelių. T_{lyd.} 120-121°C (kristalinta iš vandens). Gauta, %: N 14,89, S 16,06. C₇H₁₀N₂O₂S. Turi būti, %: N 15,04, S 17,22.

Chloracetil-4-(metansulfonamido)anilidas. Į tirpalą, gautą ištirpinus 4,3 g (0,02 mol) 4-metansulfonamidoanilino 50 ml acto rūgšties, ir atšaldytą iki 10⁰ C temperatūros, sulašinta pastoviai maišant 2,82 g (0,025M) chloracetilchlorido. Po to reakcijos mišinys išpiltas į tirpalą iš 6,4 g natrio acetato ir 20 ml vandens. Praėjus maždaug 1 h, nuosėdos nufiltruotos, praplautos vandeniu, išdžiovintos. Gauta 4,46 g (85%) rausvo atspalvio

miltelių. $T_{\text{lyd.}}$ 173-174°C (kristalinta iš vandens). Gauta, %: Cl 13,4; N 10,59; S 11,96. $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$. Turi būti, %: Cl 13,5; N 10,66; S 12,2.

N-metil-N-(4-metansulfonamidofenilkarbamoilmetil)morfolinio chloridas (1) susintetintas kaitinant 100°C temperatūroje 2,63g (0,01M) chloracetil-4-(metansulfonamido)anilido, ištirpinto acetonitrile, su 1,52 g (0,015M) N-metilmorfolino. chromatografiškai nustatant reakcijos pabaigą. Mišinį atšaldžius ir atskiedus eteriu. nuosėdos nufiltruotos ir gauta 2,62 g (72%) šviesiai rusvo atspalvio kristalinių miltelių. $T_{\text{lyd.}}$ 186-187 °C (iš atskiesto etanolio). Gauta, %: Cl 9,62; N 11,39; S 8,71. $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}$. Turi būti, %: Cl 9,74; N 11,55; S 8,81.

N,N-dietil,N-butil,N-(2,4,6-trimetilfenilkarbamoilmetil)amonio jodidas (2) gautas analogiškai metodikai, aprašytai [Janušienė L. Resp. konf. organinių medžiagų chemijos ir technologijos klausimais, skirtos akad. A.Purėno 110-sioms gimimo metinėms pažymėti. medžiaga. -Kaunas, 1991.- P.22] virinant acetone ekvimolinius 2-dietilamino-N-(2,4,6-trimetilfenil)acetamido ir butilo jodido kiekius.

Reakcijų eiga ir medžiagų grynumas buvo kontroliuoti chromatografiškai, panaudojant silufolio UV-254 plokšteles n-butilo alkoholio - etanolio - acto rūgšties - vandens (8:2:1:3) sistemoje ir ryškinimą jodo garais. Junginių struktūra atitinka elementinės analizės duomenis, UV ir PMR spektrų duomenis.

Farmakologinės patentuojamo junginio savybės

Ūminių junginių toksiškumą nustatėme abiejų lyčių baltoms pelėms, sveriančioms 17-30 g (visi gyvūnai eksperimentui gauti iš KMU vivariumo), sušvirkštę į pilvo ertmę tiriamo junginio vandeninio tirpalo tokios koncentracijos, kad būtų injekuojama ne daugiau, kaip 0,5 ml tirpalo. Gauti rezultatai vertinti Litčfildo ir Wilkoksono metodu [Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Медгиз, Ленинград. -1963.-С.152].

Antiaritminiam junginių aktyvumui ištirti panaudotas kalcio chloridu [Malinow M.R., Battle F.F., Malamud B. Amer. J.Physiol.- 1953.-Vol. 175.-P.8] vyriškos lyties baltoms žiurkėms, sveriančioms 80-140g, bei strofantinu (abiejų lyčių jūrų kiaulytėms, sveriančioms 300-600g) [Laubie M., Cheymol G., Mouille P. et al. Arch.Intern.Pharmacodyn.Ther.- 1973.-Vol. 201.- P. 323] sukeltų aritmijų modeliai.

Žiurkės buvo narkotizuotos, suleidžiant į pilvo ertmę 50 mg/kg 1% nembutalio tirpalo. Po 30 min. sušvirkštus joms į šlaunies veną tiriamojo junginio (5% nuo LD₅₀ reikšmės dozė), dar po 5 min. injekavome aritmogeninę kalcio chlorido dozę ir visą eksperimento laiką rašėme EKG. Išvirkštus į šlaunies veną kontrolinės grupės žiurkėms kalcio chlorido (CaCl₂ - 140 mg/kg) tirpalo, per pirmąsias minutes žuvo 90% gyvūnų, daugiausia - nuo skilvelių fibriliacijos. Junginių antiaritminių aktyvumą vertinome pagal žiurkių išgyvenimo procentą ir fibriliacijos atsiradimą, lygindami su kontroline gyvūnų grupe ir tradiciniais preparatais - prokainamidu, trimekainu, piromekainu.

Antifibriliacinėms savybėms nustatyti panaudojome strofantinu sukeltos aritmijos modelį. Jūrų kiaulytėms, narkotizuotoms 900mg/kg uretano ir 50mg/kg chloralozės (suleidžiant į pilvo ertmę), injekavome į šlaunies veną tiriamo junginio 5% nuo LD₅₀ reikšmės dozė. Po 3 min švirkštėme 0,008% strofantino tirpalo 8μg/min. greičiu. Intervalai tarp šių švirkštimų buvo 90 s. Analogiški bandymai atlikti ir su žinomais antiaritmikais: prokainamidu, trimekainu ir piromekainu. Eksperimento laikotarpiu rašėme EKG ir fiksavome strofantino dozes, kurių poveikyje pasireiškė šie ritmo sutrikimai: sinusinė bradikardija (SB), skilvelių ekstrasistolės (SE), skilvelių tachikardija (ST), skilvelių fibriliacija (SF) ir mirtis (M). Aktyviausi buvo junginiai, kurių fone SF ir ST neišsivystė. Be to, buvo ištirtas junginių poveikis į širdies susitraukimo amplitudę. EKG duomenis įvertinant pagal metodiką [Ойвин И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований. Пат. физиол. и эксп. терапия. 1960, т. 4, с. 76-85].

Nustatyta, kad 1 junginys (LD₅₀=225mg/kg) yra apie 4 kartus mažiau toksiškas už N,N-dietil,N-butil,N-(2,4,6-trimetilfenilkarbamoilmetil)amonio jodidą (2) (1 lentelė).

1 lentelė. Junginių ūminio toksiškumo rezultatai

Junginys*	n	LD ₅₀ ir patikimumo ribos, (mg/kg)
1	36	225,0 (184,7+265,3)
2	36	53,5 (38,7 + 73,8)
Trimekainas	36	150,0 (131,2+168,8)
Piromekainas	36	75,0 (62,3 + 87,7)
Prokainamidas	36	380,0 (343,0+421,0)

n - baltų pelių skaičius;

Nustatyta, kad 1 junginio poveikyje kalcio chloridu sukeltos aritmijos metu išgyveno

90% gyvūnų, o 10% žūsta, įvykus širdies asistolijai. Tuo tarpu kontrolinėje gyvūnų grupėje išgyvena tik 10%, o 90% žūsta, pasireiškus skilvelių fibriliacijai. Sušvirkštus 2 junginio, žuvo visos žiurkės (2 lentelė).

2 lentelė. Junginių antiaritminis aktyvumas kalcio chloridu žiurkėms sukeltos aritmijos modelyje

Junginys	n	Dozė, mg/kg	Išgyvenimo %	Žuvimo %
Kontrolė	10		10	90*
1	10	11,3	90	10**
2	10	2,7	0	100*
Trimekainas	10	7,5	0	100*
Piromekainas	10	3,8	40	60*
Prokainamidas	10	19,5	29	71*

n - gyvūnų skaičius, * - išsivystė fibriliacija, ** - įvyko asistolija;

1 ir 2 junginius ištyrus ir gliukozidinės aritmijos metodika, nustatyta, kad prieš skilvelių tachikardijos atsiradimą profilaktiškai geriau veikė 1 junginys, nes jo fone, sušvirkštus aritmogeninę strofantino dozę, šio pobūdžio ritmo sutrikimai įvyko tik vienu atveju. Tuo tarpu skilvelių fibriliacija tiek 1, tiek ir 2 (3 lentelė) junginių poveikyje apamai nepasireiškė (3 lentelė).

3 lentelė. Antiaritminis aktyvumas strofantinu (jūrų kiaulytėms) sukeltame aritmijos modelyje

Junginys, (n)	Dozė, mg/kg	Vidutinės strofantino dozės µg/kg, sukeliančios ritmo sutrikimus				
		SB	SE	ST	SF	M
Kontrolė (10)		141,8±24,1	239,6±45,4	403,6±46,2	472,0±55,5	519,4±44,6
1 (6)	11,2	120,0±15,0	167,0±28,4	*	**	387,5±88,7
2 (4)	2,7	296,6±39,4	301,3±40,3	412,3±56,6	**	482,0±60,5
Trimekainas (5)	7,5	432,3±17,0	432,3±17,0	*	467,6±26,8	496,1±19,9
Piromekainas (5)	1,8	430,0±54,6	438,6±39,4	*	*	600,0±43,1
Prokainamidas (7)	19,0	510,0±28,7	530,0±29,8	558,6±26,5	*	631,7±27,1

n - jūrų kiaulyčių skaičius;

SB-sinusinė bradikardija, SE-skilvelių ekstrasistolės, ST-skilvelių tachikardija, SF-skilvelių fibriliacija, M - mirtis;

*ST ir SF įvyko pavieniais atvejais;

** SF neįvyko

Ivertinus 1 ir 2 junginių poveikį į žiurkių širdies inotropinę funkciją, pastebėta, kad jie veikia teigiamai: abudu didina širdies inotropinę funkciją, o tradiciniai antiaritmikai - trimekainas, piromekainas šią funkciją slopina (4 lentelė).

4 lentelė. Junginių 1 ir 2 poveikis į žiurkių širdies inotropinę funkciją

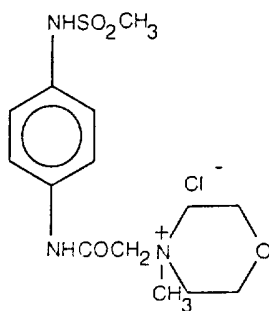
R (n=4)	R(1)	%	R	R(2)	%	R	R(T)	%	R	R(P)	%
0,9	1,0	+11	0,8	1,5	+87,5	0,85	0,8	-5,9	1,3	1,2	-7,7
0,5	0,7	+40	0,4	0,5	+25	1,1	0,88	-20,0	1,36	1,23	-9,6
0,46	0,73	+58	0,65	0,8	+23	0,96	0,6	-37,5	0,9	0,78	-13,4
0,61	0,7	+14	0,6	0,7	+7,6	1,15	0,85	-26,1	1,23	1,16	-5,7

R - R dantelio aukštis (mm) normoje; R(1) - R dantelio aukštis po 1 junginio sušvirkštimo;
 R (2) - R dantelio aukštis po 2 junginio sušvirkštimo; R(T) - R dantelio aukštis po trimekaino
 suleidimo; R (P) - R dantelio aukštis po piromekaino suleidimo;
 + - širdies inotropinė funkcija padidėjo;
 - -širdies inotropinė funkcija sumažėjo;
 n - gyvūnų skaičius;

Iš gautų duomenų matosi, kad N-metil,N-(4-metilsulfonamidofenilkarbamoil-metil)morfolinio chlorido (1) ūminis toksiškumas lyginant su artimiausiu jo struktūriniu analogu - N,N-dietil,N-butil,N-(2,4,6-trimetilfenilkarbamoilmetil)amonio jodidu (2) bei trimekainu ir piromekainu ženkliai sumažėjo, o antiaritminis efektas sustiprėjo.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS **LT 4684 B**

1. N-metil,N-(4-metansulfonamidofenilkarbamoilmetil)morfolinio chloridas, turintis formulę:



2. Junginys pagal 1 punktą, pasižymintis antiaritminiu aktyvumu ir nedideliu toksiniu poveikiu.

3. Junginys pagal 1 punktą, pasižymintis mažu ūminiu toksiškumu ($LD_{50}=225$ mg/kg) ir ženkliu antifibriliaciniu poveikiu.